

MAKALAH PENDAMPING : PARALEL C



SEMINAR NASIONAL KIMIA DAN PENDIDIKAN KIMIA IV
"Peran Riset dan Pembelajaran Kimia dalam Peningkatan Kompetensi
Profesional"
Program Studi Pendidikan Kimia Jurusan PMIPA FKIP UNS
Surakarta, 31 Maret 2012



ANALISIS PROTEIN DAN IDENTIFIKASI ASAM AMINO PADA TEPUNG GAPLEK TERFORTIFIKASI TEPUNG BIJI SAGA POHON (*ADENANTHERA PAVONINA* LINN.)

Irene Wijaya Gunawan^{1*}, Sri Hartini^{2*}, Yohanes Martono^{2*}

¹Mahasiswa Progd Kimia, FSM, UKSW, Salatiga, Indonesia (ree_cio2@yahoo.com)

²Dosen Prodi Kimia, FSM, UKSW, Salatiga, Indonesia

ABSTRAK

Gaplek, salah satu hasil olahan singkong yang paling sederhana merupakan sumber pangan lokal yang banyak diproduksi di Indonesia. Gaplek dapat diolah menjadi tepung dan digunakan untuk membuat berbagai macam makanan, hanya saja tekstur yang dihasilkan kurang bagus karena kadar protein dalam tepung sangatlah rendah. Penambahan tepung Biji saga Pohon dengan metode fermentasi merupakan salah satu cara untuk memperkaya protein. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kadar protein terlarut dan mengidentifikasi asam amino tepung gaplek terfortifikasi tepung biji saga pohon. Kadar protein akan ditentukan menggunakan Uji Biuret dan akan dianalisa menggunakan ANOVA (SPSS 15.0) dan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) dengan tingkat kebermaknaan 5%. Sebagai perlakuan adalah sampel (tepung gaplek terfortifikasi) dan kontrol (tepung gaplek fermentasi) pada jam ke 0, 20, dan 40, sedangkan sebagai kelompok adalah waktu analisa. Tepung biji saga pohon sebagai kontrol positif dan tepung gaplek kontrol negatif. Identifikasi asam amino menggunakan KLT (Kromatografi Lapis Tipis) dan datanya akan dianalisis secara deskriptif. Berdasarkan penelitian, telah dibuktikan bahwa penambahan tepung biji saga pohon secara fermentasi dapat meningkatkan kuantitas dan kualitas protein pada tepung gaplek. Hasil pengukuran kadar protein terlarut yang didapat sebesar 11,89% dan memiliki 5 jenis asam amino, 3 diantaranya telah diketahui jenisnya dengan membandingkan nilai Rf standar asam amino dan sampel yaitu fenilalanin, metionin dan treonin.

Kata Kunci: *gaplek, fortifikasi, protein, asam amino*

PENDAHULUAN

Ketergantungan masyarakat Indonesia akan komoditas terigu impor sangatlah tinggi. Terbukti dengan adanya data yang diperoleh dari data yang dihimpun APTINDO (Asosiasi Pengusaha Tepung Terigu Indonesia), konsumsi tepung terigu tahun 2011 mencapai 4,6 juta ton, lebih tinggi dari 2010 sebanyak 4,3 juta ton (Emil, 2012). Padahal, kapasitas produksi gandum nasional sendiri belum dapat memenuhi kebutuhan gandum untuk produksi tepung terigu dalam negeri. Oleh karena itu, salah satu upaya untuk mengatasi ketergantungan masyarakat terhadap konsumsi tepung terigu adalah

dilakukannya diversifikasi pangan berbasis sumber daya lokal.

Singkong atau disebut juga ubi kayu merupakan salah satu sumber pangan lokal yang perlu dikembangkan sebagai bahan pangan pokok. Menurut Balai Besar Pascapanen Departemen Pertanian RI, pada tahun 2008, produksi ubi kayu mencapai 20.313.082 ton (Misgiarta, 2010). Produksi ubi kayu yang cukup besar pada masa pasca panen, biasanya hanya langsung dimanfaatkan dalam kondisi segar atau diawetkan dahulu dengan cara dikeringkan yang biasa disebut gaplek.

Gaplek memiliki kandungan karbohidrat yang tinggi dan dapat diolah menjadi tepung, hanya saja kadar protein

yang terdapat dalam tepung galek ini masih rendah. Oleh karena itu, tepung galek belum dapat diolah menjadi bahan pangan lain secara langsung. Padahal, menurut Zayas dan De Man tahun 1997 dalam Anonim (2011) kadar protein mempengaruhi tekstur dari bahan pangan tersebut karena sifat tekstur dipengaruhi oleh pembentukan gel oleh protein kolagen dan protein sarkoplasma (protein larut air). Berdasarkan pernyataan tersebut, maka perlu dikembangkan teknologi pasca panen untuk memfortifikasi galek dengan protein.

Salah satu penelitian fortifikasi tepung galek dengan protein telah dilakukan oleh Maidawati dkk. (2011) dengan menambahkan tepung biji saga pohon (*Adenantha pavonina* Linn.) sebagai sumber protein pada tepung galek dengan metode fermentasi. Maidawati dkk. tahun 2011 yang menyatakan bahwa kondisi optimum penambahan tepung biji saga pohon dan ragi tempe dalam pembuatan tepung galek berprotein berada pada perbandingan 13,16% : 5% dengan waktu fermentasi 40,12 jam, menghasilkan protein total sebesar $22,07 \pm 0,66$ (% \pm SE).

Bahan pangan yang mengandung protein cukup tinggi belum tentu memiliki kualitas protein yang baik. Kualitas protein dilihat dari keterlarutannya dalam tubuh, karena tidak semua protein larut dalam air. Protein terlarut merupakan oligopeptida dan mudah diserap oleh sistem pencernaan (Purwoko dan Handajani, 2007). Kadar protein terlarut dalam suatu bahan pangan dapat dibuktikan dengan Uji Biuret. Selain diketahui kuantitas protein terlarutnya, perlu juga diketahui kualitasnya dengan mengidentifikasi kandungan asam amino dalam bahan pangan tersebut karena struktur primer protein terbentuk dari asam amino yang berikatan dengan asam amino lain dengan ikatan peptida. Beberapa asam amino yang terdapat dalam biji saga adalah isoleusin, leusin, lisin, metionin, sistein, fenilalanin, tirosin, treonin, dan valin (Pratiwiningsih, 1994).

Fortifikasi tepung galek dengan tepung biji saga pohon secara fermentasi diprediksi dapat meningkatkan kuantitas dan memperkaya kualitas protein. Peningkatan kadar protein yang terjadi pada tepung galek terfortifikasi diharapkan dapat digunakan untuk membuat berbagai produk olahan pangan seperti layaknya tepung terigu.

Sampai saat ini, penelitian yang berkaitan dengan protein terlarut dan

identifikasi asam amino pada tepung galek berprotein masih belum banyak dilakukan. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menentukan kadar protein terlarut, serta mengidentifikasi komposisi asam amino dalam tepung galek yang telah difortifikasi dengan tepung biji saga pohon.

PROSEDUR PERCOBAAN

Penelitian dilakukan di Laboratorium Fakultas Sains dan Matematika UKSW, Salatiga. Materi yang digunakan adalah 20 kg singkong varietas Gatokaca yang diperoleh dari Salatiga, 5 kg biji saga pohon (*Adenantha pavonina* Linn) yang dibeli dari pasar Puri di kota Pati dan ragi tempe merk Raprima.

Bahan

HCl (PA, E-Merck Germany), NaOH, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, Kalium Natrium Tartrat, akuades, Ninhidrin, BSA (*Bovine Serum Albumin*), Standar Asam Amino Lisin, Leusin, Treonin, Sistein, Metionin, dan Fenilalanin (Merck), pelarut BAA (Butanol (PA, E-Merck Germany) : Asam Asetat (PA, E-Merck Germany) : Akuades).

Piranti

Piranti yang digunakan yaitu oven WTC Binder, *centrifuge* (EBA 21 Hettich Zentrifugen), *drying cabinet*, *waterbath*, neraca (Mettler H-80), neraca (ACIS A300), spektrofotometer (Optizen UV 2120), ayakan aperture 250 μm mesh no. 60, plat KLT (Kromatografi Lapis Tipis), HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) Knauer *Smart Line*.

Pembuatan Galek

Singkong dikupas dan dicuci, selanjutnya dipotong kecil-kecil dan direndam selama 1 malam dengan air garam 10%. Selanjutnya, singkong dikeringkan dengan *drying cabinet* pada suhu 50°C selama 2 hari. Setelah kering, galek siap untuk perlakuan berikutnya.

Pembuatan Tepung Saga

Biji saga pohon dicuci lalu direndam 1 malam, kemudian direbus hingga kulitnya terbuka (\pm 2 jam). Kulit luar dan kulit ari biji saga pohon dibuang. Selanjutnya, biji saga pohon dikeringkan dalam *drying cabinet* selama 2 hari pada suhu 50°C. Setelah kering, biji saga pohon dihaluskan menggunakan *grinder*.

Pembuatan Tepung Gaplek Terfortifikasi

Gaplek dikukus selama 30 menit kemudian didinginkan. Setelah dingin, gaplek ditambah 13,16% (b/b) tepung biji saga pohon sebagai sumber protein, kemudian diinokulasi dengan ragi tempe sebanyak 5% (b/b) dan difermentasi selama 40 jam. Gaplek terfortifikasi dikeringkan dengan *drying cabinet* pada suhu 50°C. Setelah kering, gaplek terfortifikasi dihaluskan dengan *grinder* kemudian diayak dengan ayakan *aperture* 250 µm, mesh no.60. Sampel yang digunakan adalah jam ke 0, 20 dan 40.

Ekstraksi Protein (AOAC, 1995)

0,5 g sampel ditambahkan dengan 20 ml akuades dan 1ml NaOH 1 M, lalu dipanaskan pada suhu 80°C selama 10 menit. Selanjutnya, larutan dipusingkan dengan alat *centrifuge* selama 30 menit dan diambil supernatannya.

Analisis Protein Terlarut (AOAC, 1995)

Analisis protein terlarut menggunakan Uji Biuret, yaitu dengan penggunaan reagen yang dibuat dengan melarutkan 0,15 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ + 0,6 g NaKTatrat dalam labu ukur 50 ml. Kemudian larutan dimasukkan dalam labu ukur 100 ml, selanjutnya ditambah 30 ml NaOH 10% dan digenapkan dengan akuades. Pada pembuatan Kurva standar digunakan BSA (*Bovin Serum Albumin*) dengan konsentrasi 10 mg/ml . Larutan protein tersebut disiapkan dengan cara meningkatkan konsentrasinya yaitu 1,2,3,4,5,6,7,8,9, dan 10 mg/ml dalam 1 ml. Kemudian, pada setiap tabung reaksi ditambahkan 4 ml reagen Biuret dan dihomogenisasikan lalu diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar. Absorbansi masing-masing larutan diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 550 nm.

Pada pengukuran sampel diambil bagian supernatan sebanyak 1 ml. Selanjutnya ditambah reagen biuret 4 ml, setelah itu diinkubasi selama 30 menit dan diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 550 nm.

Hidrolisis Protein (Rohmer, 1991)

Hidrolisis protein menggunakan alat *refluks*, yaitu 15 g sampel ditambahkan 70 ml HCl 7,5 M dan dipanaskan pada *waterbath* dengan suhu 90°C. Selanjutnya, sampel yang telah dihidrolisis disaring dan filtrat yang didapatkan diuapkan pada suhu 90°C untuk menghilangkan HCl. Sampel

yang telah diuapkan siap digunakan untuk identifikasi asam amino.

Identifikasi Asam Amino dengan Metode KLT (Rohmer, 1991)

Identifikasi Asam Amino menggunakan metode KLT dengan fase gerak BAA (Butanol : Asam Asetat : Akuades) dengan perbandingan 4 : 1 : 1 dan fase diam plat KLT silika gel 60 F254 (Frank Rohmer, 1991). Visualisasi spot menggunakan larutan ninhidrin 0,1%.

Analisa Data

Data kadar protein yang diperoleh dianalisa menggunakan ANOVA dengan 6 perlakuan dan 4 ulangan menggunakan program SPSS 15.0. Sebagai perlakuan adalah sampel dan kontrol pada jam ke 0, 20 dan 40, sedangkan sebagai kelompok adalah waktu analisa. Perbandingan purata dianalisa dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) dengan tingkat kebermaknaan 5%. Data identifikasi asam amino menggunakan KLT akan dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Protein Terlarut

Pembuatan tepung gaplek terfortifikasi menggunakan metode fermentasi menghasilkan kadar protein terlarut sebesar 5,12%; 9,78%; dan 11,89% dengan waktu fermentasi yang digunakan adalah 0, 20 dan 40 jam. Sedangkan pada kontrol, gaplek yang hanya difermentasi menggunakan ragi tanpa penambahan tepung biji saga pohon menghasilkan kadar protein terlarut yang relatif rendah (Grafik 1). Hal ini membuktikan fortifikasi tepung biji saga pohon terhadap gaplek dapat meningkatkan kadar proteinnya.

Pada jam ke 0 hingga jam ke 40 terjadi peningkatan kadar protein terlarut, hal ini dikarenakan proses pembuatan tepung gaplek terfortifikasi menggunakan metode fermentasi. Selain itu, kadar protein terlarut dari tepung biji saga pohon sebelum digunakan fermentasi sebesar 19,90% (Tabel 1), dengan penambahan sebanyak 13,16% kedalam gaplek dan difermentasi selama 40 jam, kadar protein terlarutnya meningkat hingga 11,89%. Padahal, gaplek hanya memiliki kadar protein terlarut sebesar 1,52%.

Berdasarkan data yang didapat, penambahan protein dari biji saga pohon sangat berpotensi untuk peningkatan gizi dan kualitas dalam suatu makanan karena

protein merupakan salah satu zat penting untuk pembentukan tekstur pada makanan. Dengan meningkatnya kadar protein, tepung galek terfortifikasi dapat digunakan untuk membuat berbagai produk olahan pangan layaknya tepung terigu. Menurut SNI 01-3751-2006 kadar protein total tepung terigu min. 7,00%, sedangkan pada tepung galek terfortifikasi memiliki kadar protein terlarut sebesar 11,89%. Protein terlarut merupakan bagian dari protein total, karena tidak semua protein larut dalam air dan dari data yang dimiliki tentu saja tepung galek terfortifikasi memenuhi kriteria SNI Tepung Terigu.

Sesuai dengan hipotesa yang digunakan, data yang didapat membuktikan bahwa fermentasi yang digunakan dapat meningkatkan kadar protein, karena ragi yang digunakan fermentasi menghasilkan enzim protease yang dapat mendegradasi protein yang kompleks menjadi protein yang lebih sederhana.

Data kadar protein terlarut yang dianalisa menggunakan statistik terdapat bedanya. Pada P₁, P₂, dan P₃ (kontrol) beda nyata, sebaliknya pada P₄, P₅, dan P₆ (Tepung Galek terfortifikasi) terdapat beda nyata (Tabel 2). Hal ini membuktikan bahwa adanya proses fortifikasi menyebabkan kadar protein dalam tepung galek meningkat. Pada sampel yang diberi penambahan tepung biji sago pohon terlihat adanya perbedaan yang signifikan pada setiap jamnya, semakin lamanya proses fermentasi dimungkinkan semakin besar kadar protein terlarutnya. Tetapi perlu dicermati, dalam pencapaian hasil peningkatan kadar protein maupun jenis asam aminonya harus dilakukan di fase logaritmik. Hal ini diperkuat oleh hasil penelitian Maidawati dkk. Tahun 2011 yang menyatakan bahwa kualitas produk fortifikasi galek sangat ditentukan oleh optimalisasi waktu fermentasi.

Identifikasi Asam Amino

Protein merupakan gabungan dari beberapa asam amino, maka lebih lanjut telah dilakukan identifikasi asam amino terhadap sampel tepung galek terfortifikasi menggunakan metode KLT. Terdapat peningkatan jenis asam amino pada tepung galek terfortifikasi. Didapatkan 5 jenis asam amino yang terkandung dalam tepung galek berprotein, 3 diantaranya telah diketahui jenisnya menggunakan data nilai R_f dari hasil KLT yang telah dibandingkan dengan asam amino standar, yaitu fenilalanin, metionin dan treonin.

Padahal pada tepung galek tanpa penambahan sumber protein hanya didapatkan 3 jenis asam amino yang salah satunya (Gambar 1, Tabel 3a dan Tabel 3b). Data yang diperoleh ini membuktikan bahwa tepung galek terfortifikasi telah mengalami penambahan jumlah asam amino, sehingga dapat dikatakan kualitas protein dari tepung galek meningkat.

KESIMPULAN

Kadar protein terlarut dalam tepung galek terfortifikasi dengan waktu fermentasi optimal 40 jam adalah 11,89% dan terdapat 5 jenis asam amino yang 3 diantaranya adalah fenilalanin, metionin dan treonin.

DAFTAR RUJUKAN

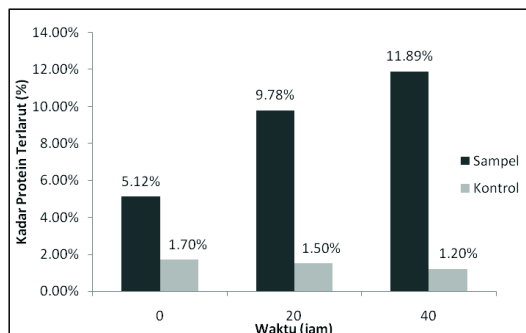
- [1] Anonim. 2011. 4 Hasil dan Pembahasan. www.damandiri.or.id/file/epirospiatii_pbbab4.pdf. [7 Desember 2011]
- [2] AOAC. 1995. Official Methods of Analysis of The Association of Official Analytical Chemists. AOAC: Washington DC
- [3] Emil. 2012. Tepung Mocaf Solusi Atasi Ketergantungan Impor terigu. <http://ekonomi.kompasiana.com/bisnis/2012/01/17/tepung-mocaf-solusi-atasi-ketergantungan-impor-terigu/> [27 Februari 2012]
- [4] Maidawati dkk. 2011. Pemanfaatan Tepung Biji Sago Pohon (*Adenanthera pavonina* Linn) dalam Optimalisasi Pembuatan Tepung Galek Berprotein sebagai Bahan Substitusi Tepung Terigu. Skripsi. Program Studi Kimia., Fakultas Sains dan Matematika. Universitas Kristen Satya Wacana.
- [5] Misgiarta. 2010. Alternatif Pengganti Tepung Terigu. <http://bangkitani.com/litbang/alternatif-pengganti-terigu/>. [2 Desember 2011]
- [6] Pratiwiningsih. 1994. Bab II Tinjauan Pustaka. http://repository.ipb.ac.id/bitstream/handle/123456789/30433/BAB%20I%20Tinjauan%20Pustaka_F94TIP-3.pdf?sequence=7. [6 September 2011]
- [7] Rohmer, Frank. 1991. *Food Chemistry Part 3: Chromatography-Enzymatic Test Methods*. Jerman: Leybold Didactic GmbH.

[8] SNI. 2006. Tepung Terigu sebagai Bahan Makanan. Badan Standarisasi Nasional SNI No. 01-3751-2006. Jakarta

[9] Sudarmadji. 1984. Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian Edisi Ketiga. Yogyakarta: Liberty

[10] Winarno, F.G. 1992. Kimia Pangan dan Gizi. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama

LAMPIRAN



Grafik 1 Kadar protein terlarut tepung gapek terfortifikasi dan kontrol

Tabel 1 Kadar protein terlarut

	Kadar Protein Terlarut (%; b/b)
Tepung Terigu	20,25
Tepung Biji saga Pohon	19,90
Gapek	1,52
Tepung Gapek Terfortifikasi	11,89

Tabel 2 Perbandingan purata kadar protein terlarut dianalisa dengan uji BNJ

P ₁	1.7025 ± 0.2027a
P ₂	1.5025 ± 0.04802a
P ₃	1.1950 ± 0.08770a
P ₄	5.1200 ± 0.16345b
P ₅	9.7775 ± 0.22340c
P ₆	11.8913 ± 0.29205d

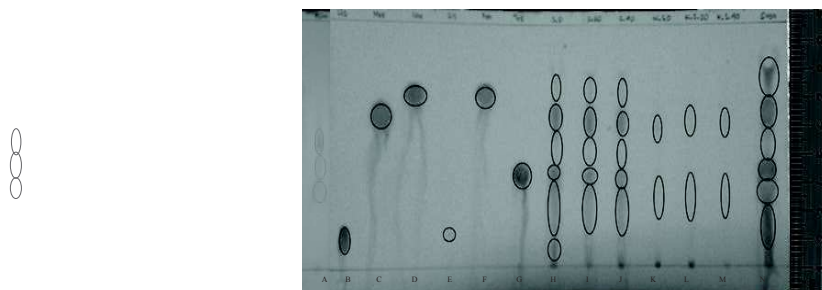
Keterangan : P₁ = Kontrol jam ke-0, P₂ = Kontrol jam ke-20, P₃ = Kontrol jam ke-40, P₄ = Sampel jam ke-0, P₅ = Sampel jam ke-20, P₆ = Sampel jam ke-40; Angka disetiap kolom yang diikuti huruf kecil yang sama adalah tidak adanya beda nyata pada taraf 5%, DNMRT

Tabel 3a Identifikasi Asam Amino Bahan Dasar

Standar Asam Amino			Nilai Rf Saga	Nilai Rf Gaplek
Jenis	Warna	Nilai Rf		
Fenilalanin	Kuning-coklat	0.71	0.73	-
Leusin	ungu-merah muda	0.70	0.63	-
Metionin	Ungu	0.62	0.51	0.53
Treonin	merah muda	0.38	0.41	0.42
Sistein	Kuning	0.14	0.32	0.30
Lisin	merah muda	0.12	0.18	-

Tabel 3b Identifikasi Asam Amino Tepung Gaplek Terfortifikasi

Jenis Asam Amino Standar	Nilai Rf Kontrol Tepung Gaplek Terfortifikasi			Nilai Rf Sampel Tepung Gaplek Terfortifikasi		
	Jam ke-0	Jam ke-20	Jam ke-40	Jam ke-0	Jam ke-20	Jam ke-40
Fenilalanin	-	-	-	0.73	0.74	0.74
Leusin	0.59	0.59	0.59	0.61	0.61	0.60
Metionin	-	-	-	0.48	0.48	0.48
Treonin	0.34	0.33	0.34	0.38	0.37	0.36
Sistein	-	-	-	0.28	0.25	0.25
Lisin	-	-	-	0.08	-	-



Gambar 1 Hasil identifikasi Asam Amino menggunakan KLT

Keterangan : A= Gaplek, B= Lisin, C= Metionin, D= Leusin, E= Sistein, F= Fenilalanin, G= Treonin, H= Sampel jam ke-0, I= Sampel jam ke-20, J= Sampel jam ke 40, K= Kontrol jam ke-0, L= Kontrol jam ke-20, M= Kontrol jam ke-40, N= Tepung Biji saga Pohon